



UNIVERSIDADE FEDERAL DA PARAÍBA
CAMPUS II – AREIA-PB
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
CURSO DE MEDICINA VETERINÁRIA

EMMANUEL JOSÉ FIALHO CAMILO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE RAÇÕES COMERCIAIS PARA CÃES E GATOS, VENDIDAS A GRANEL,
NO AGRESTE PARAIBANO**

AREIA

2019

EMMANUEL JOSÉ FIALHO CAMILO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE RAÇÕES COMERCIAIS PARA CÃES E GATOS, VENDIDAS A GRANEL,
NO AGRESTE PARAIBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade Federal da Paraíba.

Orientador: Prof.º Dr.º Felipe Nael Seixas.

AREIA

2019

Catálogo na publicação
Seção de Catalogação e Classificação

A663a Araújo, Eros Jofily Fernandes Soares.

Achados histopatológicos em linfonodos
pulmonares de
bovinos destinados ao abate em matadouros nas regiões
do Brejo e Curimataú paraibano / Eros Jofily Fernandes
Soares Araújo. - Areia, 2019.
40 f. : il.

Monografia (Graduação) - UFPB/CCA.

1. Inspeção. 2. Necropsia. 3. Saúde Pública. I. Título

UFPB/CCA-AREIA

EMMANUEL JOSÉ FIALHO CAMILO

**ANÁLISE MICROBIOLÓGICA DE RAÇÕES COMERCIAIS PARA CÃES E GATOS, VENDIDAS A GRANEL,
NO AGRESTE PARAÍBANO**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado
como requisito parcial à obtenção do título de
Bacharel em Medicina Veterinária pela
Universidade Federal da Paraíba.

Aprovado em: __/__/____.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Drº. Felipe Nael Seixas

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Profª. Drª. Bruna Agy Loureiro

Universidade Federal da Paraíba (UFPB)

Drº. Felício Garino Junior

Biólogo

A meus pais, pelo amor, paciência e por tudo aquilo
que construímos e vamos construir, DEDICO.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a meus pais por tudo que fizeram e fazem por mim, por terem me dado a oportunidade de estudar durante toda a minha vida e durante o curso de graduação, por terem me ajudado em momentos difíceis e quando estive doente, por serem tudo o que são e representam para mim. Nada teria sido possível sem a presença deles.

Agradeço ao Prof.º Dr.º Felipe Nael Seixas, por toda ajuda e ensinamentos passados durante a graduação, pela paciência e orientação durante a realização dos experimentos do TCC.

Aos professores que se mostraram exemplos de profissionais, seja lecionando ou exercendo atividade em suas áreas, mas acima de tudo, atuando como verdadeiros educadores, contribuindo para a formação moral e profissional, tendo valores, ética e respeito.

Agradeço aos funcionários do Hospital Veterinário do Campus II da UFPB, por toda ajuda concedida durante todos os meus estágios e experimentos, pelas práticas e conhecimentos que foram transmitidos e ajudaram no processo de realização deste trabalho de conclusão de curso.

Aos residentes do Hospital Veterinário, pelos ensinamentos durante a prática clínica e laboratorial, pelas conversas e momentos de descontração e pela ajuda e paciência durante a realização do TCC.

Aos meus animais, por todo o companheirismo e amor, pelas horas de conversa e de estudos e por me ajudarem até hoje nos momentos de estresse.

Aos meus amigos, por todas as ajudas em momentos ruins com ouvidos e braços sempre à postos, pelos momentos de diversão, companheirismo, pelas idas às praças e cachoeiras, pela ajuda durante a realização do TCC e por todos os momentos bons que ainda irão vir.

“Can I ask a question? The right thing, what is it? I wonder if you do the right thing, does it really make everyone happy? Your true face, what kind of face is it? I wonder, the face under the mask, is that your true face? ”

Children on the Moon, The Legend of
Zelda: Majora's Mask

RESUMO

A linha de produção de rações secas para animais de companhia é bastante extensa e, apesar do mercado pet se apresentar em constante crescimento, sofre pela falta de uma legislação específica capaz de controlar de forma adequada a produção e venda de rações. As rações vendidas a granel são as mais propícias a apresentarem contaminantes, visto sua exposição. Foram coletadas e analisadas 21 amostras (cada uma com 200-300g), de 10 cidades diferentes, em duplicata e série de 3 tubos, de rações secas para animais de companhia, 20 vendidas a granel e um em saco fechado. Foram realizadas contagem total de mesófilos aerófilos, contagem total de leveduras e bolores e foram determinados os números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes. Nos resultados foi observada presença de crescimento na maioria das amostras testadas para mesófilos aerófilos, leveduras e bolores, o que indicou contaminação bacteriana e fúngica das amostras. Nas provas de coliformes realizadas seis amostras reagiram nos tubos das diluições de 10^{-1} . Recomenda-se a elaboração de uma legislação adequada para a produção de rações, bem como novos métodos de armazenagem da ração vendida a granel para preservar a qualidade microbiológica e nutricional do alimento.

Palavras-chave: Avaliação, microbiologia, qualidade, pet, higiene.

ABSTRACT

The production line of dry ration for company animals is so long and, although the pet market is constantly growing, suffers from the lack of specific legislation capable of adequately controlling the production and sale of dry ration. Rations sold in bulk are the most likely to present contaminants, once their exposure. Twenty one samples (each with 200-300g) of 10 different cities, in duplicate and series of 3 tubes, of dry petfood (20 sold in bulk and 1 in a closet bag) were collected and analyzed. Total counts of aerophilic mesophiles, total yeast and mold counts were determined and the most probable numbers of total and thermotolerant coliforms were determined. In the results, growth was observed in most of the samples tested for aerophilic mesophiles, yeasts and molds, indicating bacterial and fungal contamination of the samples. In the coliform tests six samples were reacted in the 10^{-1} dilution tubes. It is recommended to develop adequate legislation for the production of dry ration for company animals as well as new methods of storing the ration sold in bulk to preserve the microbiological and nutritional quality of the ration.

Keyword: Evaluation, microbiology, quality, pet, hygiene.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Porcentagem total de amostras positivas para mesófilos aerófilos, leveduras e bolores, coliformes totais e coliformes termotolerantes.	20
---	-----------

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Limites para contaminantes microbiológicos segundo normas do MAPA e manual ABINPET. 16
- Tabela 2** - Resultados microbiológicos das contagens de mesófilos aerófilos, fungos e bolores e do crescimento de coliformes totais e termotolerantes. 17
- Tabela 3** - Datas de validade, segmento comercial e espécie indicada pela raça. 18

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%: porcentagem

g: gramas

Kg: quilogramas

PCA: Ágar Padrão para Contagem

SAB: Ágar Sabourand

LST: Caldo Lauril Sulfato Triptose

VB: Caldo Verde Brilhante

EC: Caldo *Escherichia Coli*

NMP/g: Número Mais Provável por grama

UFC/g: Unidades Formadoras de Colônia por grama

°C: Graus Celsius

ml: mililitro

SP: Super-premium

MAPA: Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento

ABINPET: Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO	13
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	14
3.	RESULTADOS E DISCUSSÕES	15
4.	CONCLUSÕES	20
5.	REFERÊNCIAS.....	21
6.	ANEXO 1	23

O trabalho de conclusão de curso está sendo apresentado em forma de artigo segundo as normas da Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal - Brazilian Journal of Hygiene and Animal Sanity (Anexo 1).

Análise microbiológica de rações comerciais para cães e gatos, vendidas a granel, no Agreste paraibano

Microbiological analysis of commercial diets for dogs and cats, sold in bulk, in interior of Paraíba
Emmanuel José Fialho Camilo¹, Felipe Nael Seixas³

Resumo: A linha de produção de rações secas para animais de companhia é bastante extensa e, apesar do mercado pet se apresentar em constante crescimento, sofre pela falta de uma legislação específica capaz de controlar de forma adequada a produção e venda de rações. As rações vendidas a granel são as mais propícias a apresentarem contaminantes, visto sua exposição. Foram coletadas e analisadas 21 amostras (cada uma com 200-300g), de 10 cidades diferentes, em duplicata e série de 3 tubos, de rações secas para animais de companhia, 20 vendidas a granel e um em saco fechado. Foram realizadas contagem total de mesófilos aerófilos, contagem total de leveduras e bolores e foram determinados os números mais prováveis de coliformes totais e termotolerantes. Nos resultados foi observada presença de crescimento na maioria das amostras testadas para mesófilos aerófilos, leveduras e bolores, o que indicou contaminação bacteriana e fúngica das amostras. Nas provas de coliformes realizadas seis amostras reagiram nos tubos das diluições de 10^{-1} . Recomenda-se a elaboração de uma legislação adequada para a produção de rações, bem como novos métodos de armazenagem da ração vendida a granel para preservar a qualidade microbiológica e nutricional do alimento.

Palavras-chave: Avaliação, microbiologia, qualidade, pet, higiene.

Abstract

The production line of dry ration for company animals is so long and, although the pet market is constantly growing, suffers from the lack of specific legislation capable of adequately controlling the production and sale of dry ration. Rations sold in bulk are the most likely to present contaminants, once their exposure. Twenty one samples (each with 200-300g) of 10 different cities, in duplicate and series of 3 tubes, of dry petfood (20 sold in bulk and one in a closet bag) were collected and analyzed. Total counts of aerophilic mesophiles, total yeast and mold counts were determined and the most probable numbers of total and thermotolerant coliforms were determined. In the results, growth was observed in most of the samples tested for aerophilic mesophiles, yeasts and molds, indicating bacterial and fungal contamination of the samples. In the coliform tests six samples were reacted in the 10^{-1} dilution tubes. It is recommended to develop adequate legislation for the production of dry ration for company animals as well as new methods of storing the ration sold in bulk to preserve the microbiological and nutritional quality of the ration.

Keyword: Evaluation, microbiology, quality, pet, hygiene.

INTRODUÇÃO

A relação dos homens com os cães e gatos vem se desenvolvendo mais nos últimos anos, porém acompanha o desenvolvimento da sociedade humana. Essa relação envolve diversos fatores (companhia, caça, segurança) e gera interações positivas tanto para o homem quanto para o animal.

O mercado de animais de estimação tem se difundido cada vez mais dentre todas as classes sociais. Vários setores desse mercado, incluindo o de alimentos, vem ganhando mais espaço nas prateleiras e também no consultório de médicos veterinários.

O crescimento do vínculo humano-animal tem impulsionado a preocupação com o bem-estar animal, principalmente dos animais de companhia, bem como com a qualidade e segurança dos alimentos destinados a estes animais (HILLMANN, 2015).

O setor alimentício é produtor de mercadorias muito comercializadas dentro do mercado pet, como ossos comestíveis, petiscos, rações secas e úmidas. Todos os setores do mercado pet vêm em constante crescimento nos últimos anos, segundo dados da ABINPET (Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação), em 2011 cresceu cerca de 13% (onde o seguimento pet food faturou 66% do total) quando comparado a 2010, em 2015 houve aumento de 7,6% comparando com 2014. Em 2017 o Brasil fechou o ano como o segundo maior mercado pet e com a quarta maior população de animais de estimação do mundo (ABINPET, 2017).

As rações secas são, atualmente, o principal alimento disponibilizado para cães e gatos, estas geralmente são comercializadas em embalagens, variando entre 500 g e 25 kgs, mas também podem ser vendidas a granel, em saco aberto previamente, com a ração armazenada no próprio saco ou em outros recipientes. A venda das rações a granel acaba competindo com a comercialização de pacotes lacrados nos mesmos estabelecimentos, uma vez que oferecem certas vantagens ao comerciante e aos consumidores, tais como: menor preço de compra pelos estabelecimentos e um repasse com menor valor para a população, aumentando as vendas e lucro para os locais de venda (CAPPELLI et al., 2016).

O fato da venda a granel das rações ser mais barata é relativo, visto que o preço do quilograma (kg) nas rações em saco fechado varia de acordo com a quantidade de ração, podendo este chegar em preços mais baixos quando adquiridas embalagens maiores.

Essas rações são classificadas de acordo com o seu segmento comercial em econômicas, standart, premium e super-premium, onde as super-premium são consideradas as melhores nesse aspecto. No mercado é possível encontrar também denominações que se enquadram dentro das classificações acima, como premium especial e high premium.

Segundo Andrade & Nascimento (2005), um dos fatores que levam risco à saúde dos animais se refere à contaminação dos alimentos por fungos e outros microrganismos. Essa contaminação pode ocorrer desde a produção e o armazenamento da matéria-prima de origem animal e de grãos, que são amplamente utilizados na fabricação de rações para várias espécies animais, até a industrialização e embalagem do produto final (SILVA, 1998).

O tratamento térmico realizado durante o processo de produção das rações secas extrusadas pode atingir temperaturas superiores a 150 °C, sendo esta maior do que as utilizadas para esterilização comum. Por isso, age como importante recurso para diminuir a incidência de

fungos e bactérias, bem como para reduzir a atividade em água, este importante para limitar o crescimento posterior de microrganismos (GIRIO, 2007). A adição de antifúngico realizada nas rações também é um importante fator na manutenção da esterilidade dentro das embalagens.

Embora o produto passe por esse processamento térmico, falhas nas boas práticas de fabricação, da empresa ou do operador, podem abrir espaço para a perda da esterilidade do produto (AMERICANO, 2016). A contaminação também pode ocorrer em etapas seguintes do processo, como na pulverização por gordura, secagem, empacotamento e armazenamento (SILVA, 2011).

Outra etapa onde pode ocorrer a contaminação das rações é na venda, como em sacos rasgados ou na venda a granel. As rações vendidas a granel permanecem expostas ao ambiente, podendo diminuir a eficácia das técnicas aplicadas para garantir sua esterilidade. A veiculação de agentes por vetores como insetos e roedores também é facilitada com a exposição das rações. (GIRIO, 2007)

Visto que os microrganismos se multiplicam facilmente e que as rações, além de serem fonte de nutrientes para a proliferação desses, ainda podem estar sendo contaminadas em várias fases do processamento e também da comercialização, faz-se necessário avaliar a qualidade das rações por meio das análises de mesófilos aerófilos, leveduras e bolores, coliformes totais e termotolerantes (fecais).

MATERIAIS E MÉTODOS

Foram coletadas 21 amostras de rações secas com validade entre setembro de 2018 e janeiro de 2020, 20 vendidas a granel e uma de um saco fechado (amostra controle), de 12 marcas diferentes, vendidas a granel em lojas veterinárias (pet shop, casa de ração, clínica) e mercados, cada uma contendo entre 200 e 300 gramas. As amostras foram coletadas em 20 estabelecimentos diferentes (10 do setor veterinário e 10 de mercados), em 10 cidades diferentes do brejo paraibano, sendo elas: Bananeiras; Solânea; Arara; Pilões; Areia; Remígio; Esperança; São Sebastião de Lagoa de Roça; Lagoa Seca e Campina Grande. Das amostras coletadas 11 eram rações para cães (adultos e filhotes) e 10 eram rações para gatos (adultos e filhotes), sendo analisadas rações econômicas, premium e super-premium, armazenadas para venda em sacos abertos, fechados, baldes de plástico, tubos de papelão e em estantes com caixotes de madeira (com o saco dentro ou a ração solta dentro). As amostras eram coletadas com instrumento do local, de uso específico para as rações, e acondicionados em sacos “zip lock” estéreis, posteriormente foram armazenadas refrigeradas a 8-12 °C, durante, no máximo, sete dias.

As análises de coliformes totais, termotolerantes, mesófilos aerófilos, leveduras e bolores foram realizadas no laboratório de Medicina Veterinária Preventiva, do Hospital Veterinário, da Universidade Federal da Paraíba, campus II. O laboratório detinha os instrumentos necessários para realização das análises. Os estabelecimentos onde foram coletadas as rações foram avaliados quanto as condições de venda das rações, sendo analisados visualmente os recipientes onde eram alocadas, o ambiente interno do local e o atendimento, quanto a higiene, infraestrutura, organização.

Foram pesadas 25g de cada amostra e macerados, manualmente (com auxílio de “zip lock” estéril), com adição de 225ml de água peptonada a 0,1% estéril, formando a diluição 10⁻¹. Posteriormente foram realizadas sucessivas diluições, 10⁻²; 10⁻³ e 10⁻⁴.

As diluições foram passadas para os meios e analisadas de acordo com a metodologia descrita por Silva (1997).

No PCA (Ágar Padrão para Contagem), as placas foram incubadas a 37 °C, durante 48 horas, para o crescimento de mesófilos aerófilos.

No SAB (Ágar Sabourand acrescido de gentamicina), as placas foram incubadas a 24 °C, durante sete dias, para crescimento de leveduras e bolores.

No caldo LST (Lauril-Sulfato-Triptose), os tubos foram incubados a 37 °C, durante 48, para triagem de coliformes.

No caldo VB (Verde-Brilhante), os tubos foram incubados a 37 °C, durante 48 horas, para o crescimento de coliformes totais. No caldo EC (*Escherichia Coli*), os tubos foram incubados a 42 °C, durante 48 horas, para o crescimento de coliformes termotolerantes. Foi utilizada a tabela contida na Instrução Normativa nº62 do Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento (MAPA, 2003), para interpretar o resultado dos testes e determinar o Número Mais Provável de coliformes totais e coliformes termotolerantes por grama de ração.

Para todos os testes citados foram realizados controles negativos. Após passar o período de incubação descrito, foram coletados os resultados obtidos nas placas e tubos. Os dados obtidos foram tabulados, foi utilizada a estatística descritiva para análise e interpretação dos dados e auxiliar no desenvolvimento e exposição dos resultados e discussões.

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Na análise realizada na amostra controle não houve crescimento de mesófilos aerófilos e nem de bolores e leveduras, nos seus respectivos meios padronizados para o experimento. A amostra controle também não se mostrou positiva na triagem para coliformes.

Dos estabelecimentos visitados todos apresentavam venda de ração a granel e em saco fechado, não priorizavam a venda de nenhum dos tipos de ração (durante o atendimento), porém o preço das rações vendidas em saco fechado era maior em 90% dos comércios visitados (quando comparados preços referente a 1 kg). Observou-se animais em 65% dos locais visitados, e em 70% destes, o número de espécies era maior que um.

A venda fracionada das rações segue regulamento da Lei Nº6198, de 26 de dezembro de 1974 (BRASIL, 1974). A mesma fala sobre o credenciamento dos estabelecimentos, levando em consideração aspectos de infraestrutura e organização; sobre a fiscalização, sendo realizadas visitas, coletas e análises laboratoriais para verificar a qualidade da ração; sobre a utilização de boas práticas de higiene durante o armazenamento e a venda; dentre outros fatores. Essa fiscalização deve ocorrer para preservar o consumidor, garantindo que rações fora dos padrões estabelecidos não sejam comercializadas.

A ausência de padrões microbiológicos para alimentos para cães e gatos dificulta a análise sobre o risco que os contaminantes biológicos possam representar à saúde dos animais de companhia e humanos, já que muitos patógenos são agentes zoonóticos (SOUZA, 2013). A legislação vigente no Brasil sobre o assunto é antiquada (MAPA) e mesmo padrões estabelecidos por empresas privadas (ABINPET) ainda parecem desatualizados. Alguns limites estão abaixo na Tabela 1.

Tabela 1. Limites para contaminantes microbiológicos segundo normas do MAPA e manual ABINPET.

<i>Análises (UFC/g)</i>	<i>Animais de produção. (MAPA, 2000)</i>			<i>Animais de companhia. (ABINPET, 2008)</i>		
	Adequado	Aceitável	Inaceitável	Adequado	Aceitável	Inaceitável
<i>Contagem total de mesófilos/g</i>	<10 ⁵	10 ⁵ - 10 ⁷	>10 ⁸	NI	NI	NI
<i>E. coli/ 25g</i>	Ausente	Presente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
<i>Coliformes fecais</i>	NI	NI	NI	<10	10 – 10 ³	>10 ⁴
<i>Enterobactérias/g</i>	<10	10 - 10 ⁴	>10 ⁵	<10	10 – 10 ³	>10 ⁴
<i>Salmonella/ 25g</i>	Ausente	Ausente	Presente	Ausente	Ausente	Presente
<i>Fungos e leveduras/g</i>	< 10	10 ³ - 10 ⁴	>10 ⁵	<10	10 – 10 ³	>10 ⁴

Fonte: Adaptado MAPA (2000) e ABINPET (2008)

NI: Não informado.

Na análise de mesófilos aerófilos das amostras de ração vendidas a granel, houve crescimento em 95% (19) das amostras, em 60% das placas com a diluição de 10⁻³e, por fim, em 25% das placas com a diluição de 10⁻⁴, sendo produzidas geralmente colônias circulares, brancas ou amarronzadas, de tamanhos variados, de aspecto mucóide ou rizóide, friáveis ou não, com bordas regulares ou irregulares. Em lâminas feitas, com a coloração de Gram, a partir de colônias selecionadas pode-se visualizar a presença de cocos e bastonetes, em diferentes arranjos, Gram-positivos em sua maioria. Das amostras que apresentaram crescimento a contagem mínima foi de 1,5 x 10 UFC/g e a máxima de 1,625 x 10⁵ UFC/g, como mostra a Tabela 2.

De acordo com os resultados encontrados no experimento, houve contaminação microbiana das rações vendidas a granel, foi constatado que a mesma é tanto de caráter bacteriano quanto de caráter fúngico, resultado semelhante também foi encontrado por Capelli et al. (2016), no Rio Grande do Sul, onde encontrou 86,36% de contaminação por mesófilos aerófilos e 90,9% por leveduras e bolores. O crescimento das colônias apresentou uma redução progressiva ao passar das diluições mais para as menos concentradas, esse fato não garante a qualidade do produto, visto à possibilidade da presença de agentes patogênicos não identificados. Na contagem pelo método de plaqueamento em profundidade observamos que três amostras apresentaram entre 10 e 10²UFC/g, dez amostras apresentaram entre 10²e 10⁴ UFC/g e seis amostras apresentaram contagem acima de 10⁴ UFC/g, três amostras ultrapassaram o limite considerado adequado pelo MAPA (>10⁵). Deve-se constatar que a amostra cinco não apresentou crescimento nas placas com PCA em nenhuma diluição, esse fato pode estar relacionado com a qualidade super-premium da ração e com o armazenamento adequado proporcionado pelo estabelecimento.

Segundo Girio (2007), a presença em maior número de bactérias mesófilas em rações a granel pode ser explicada pelo tempo de exposição ao meio ambiente do produto quando de sua

formulação. A presença de bactérias mesófilas em ração em contagens aceitáveis ($<10^6$ UFC/g) não representa risco para a saúde animal, conforme relata Santos (2000).

Tabela 2. Resultados microbiológicos das contagens de mesófilos aerófilos, fungos e bolores e do crescimento de coliformes totais e termotolerantes.

<i>Amostras</i>	<i>Contagem total de mesófilos aerófilos (UFC/g)</i>	<i>Contagem total de leveduras e bolores (UFC/g)</i>	<i>Coliformes totais (NMP/g) (mín-máx)</i>	<i>Coliformes termotolerantes (NMP/g) (mín-máx)</i>
<i>Controle</i>	< 1	< 1	< 3	< 3
<i>1</i>	7×10	5×10	< 3	< 3
<i>2</i>	$7,25 \times 10$	1×10^4	23 (4,6-94)	23 (4,6-94)
<i>3</i>	$2,25 \times 10^4$	< 1	< 3	< 3
<i>4</i>	$1,625 \times 10^5$	< 1	< 3	< 3
<i>5</i>	< 1	$2,5 \times 10^2$	< 3	< 3
<i>6</i>	$3,225 \times 10^3$	5×10^3	< 3	< 3
<i>7</i>	$2,025 \times 10^3$	$2,5 \times 10$	< 3	< 3
<i>8</i>	$1,325 \times 10^4$	5×10	< 3	< 3
<i>9</i>	$1,5 \times 10$	5×10^2	< 3	< 3
<i>10</i>	1×10^3	5×10^3	23 (4,6-94)	23 (4,6-94)
<i>11</i>	$6,25 \times 10^3$	5×10^2	< 3	< 3
<i>12</i>	$5,25 \times 10^2$	$7,5 \times 10^3$	< 3	< 3
<i>13</i>	$2,5 \times 10^2$	2×10^2	23 (4,6-94)	23 (4,6-94)
<i>14</i>	1×10^4	$2,5 \times 10^3$	< 3	< 3
<i>15</i>	5×10^2	$1,5 \times 10^4$	< 3	< 3
<i>16</i>	$3,5 \times 10^3$	$1,5 \times 10^4$	< 3	< 3
<i>17</i>	$1,45 \times 10^5$	5×10	< 3	< 3
<i>18</i>	2×10^3	3×10^2	23 (4,6-94)	23 (4,6-94)
<i>19</i>	$1,5 \times 10^4$	$3,5 \times 10^2$	3,6 (0,2-17)	< 3
<i>20</i>	$1,41 \times 10^5$	2×10^3	23 (4,6-94)	< 3

UFC/g: Unidades formadoras de colônia por grama.

NMP/g: Número mais provável por grama.

Outro fator que está ligada a contaminação bacteriana é a má qualidade higiênico-sanitária do ambiente onde a ração esteja sendo alocada e o ambiente externo a esse. Nos estabelecimentos onde foram efetuadas as coletas, pôde-se notar que a situação dos locais era condizente com o crescimento presente nas placas, visto que nesses era possível visualizar animais soltos próximos aos recipientes ou sacos de ração, recipientes das rações muitas vezes sujos, abertos e em locais inapropriados (ambiente próximo de frutas, carnes, gaiolas com aves, depósitos, dentre outros), má higienização geral do estabelecimento, áreas que dão acesso da rua para a área interna da loja (buracos no teto, telhado e depósitos), recipientes de ração com crescimento fúngico macroscopicamente visível ou com manchas de gordura.

Na análise de leveduras e bolores, por contagem pelo método de plaqueamento em superfície, houve crescimento em 90% (18) das amostras, na diluição de 10^{-1} e em 30% dos casos, na diluição de 10^{-3} , sendo produzidas colônias filamentosas circulares, de vários tamanhos, brancas e brancas com a parte central esverdeada, com bordas regulares, também foram

produzidas colônias leveduriformes circulares, pequenas, de coloração branca ou avermelhada, com aspecto mucoso e bordas regulares. Em lâminas feitas, com a coloração de Gram, a partir de colônias selecionadas, pode-se visualizar a presença de hifas com coloração azuladas, conidióforos em diversos estágios de desenvolvimento, e conídios arredondados dispersos. Das amostras que apresentaram crescimento a contagem mínima foi de $2,5 \times 10$ UFC/g e a máxima de $1,5 \times 10^4$ UFC/g, como apresentado na Tabela 2.

Tabela.3 Datas de validade, segmento comercial e espécie indicada pela raça.

<i>Amostras</i>	<i>Validade</i>	<i>Segmento Comercial - Espécie</i>
<i>Controle</i>	Outubro/ 2019	Premium/ Adultos – Cão
1	Novembro/ 2018	Premium/filhote – Gato
2	Setembro/2018	Econômica/adulto - Cão
3	Outubro/ 2018	Premium/adulto - Gato
4	Janeiro/ 2019	Econômica/filhote - Cão
5	Dezembro/ 2018	SP/castrado - Gato
6	Março/ 2019	Econômica/adulto - Cão
7	Setembro/ 2018	Premium/filhote - Cão
8	Novembro/ 2018	Econômica/adulto - Gato
9	Novembro/ 2018	Premium/adulto – Gato
10	Novembro/ 2018	Premium/filhote – Cão
11	Outubro/ 2018	Econômica/adulto – Gato
12	Dezembro/ 2018	Econômica/filhote – Cão
13	Outubro/ 2019	Premium/ Adultos – Gato
14	Janeiro/ 2020	Premium/ Adultos – Cão
15	Setembro/ 2019	Premium/ Filhotes – Gato
16	Julho/ 2019	Premium/ Adultos – Cão
17	Agosto/ 2019	Premium/ Filhotes - Gato
18	Agosto/ 2019	Econômica/ Adulto – Cão
19	Setembro/ 2019	Premium/ Filhotes – Cão
20	Dezembro/ 2019	Econômica/ Adulto - Gato

SP: Super-premium

O crescimento fúngico também apresentou redução progressiva no número de colônias por placa, de acordo com o aumento do fator da diluição, da mesma forma este não garante a qualidade da raça, visto que existem fungos produtores de micotoxinas, e estas não são eliminadas do meio com a utilização de técnicas comuns. Na contagem de fungos e bolores, realizada pelo método de plaqueamento em superfície, observamos que quatro amostras apresentaram contagem entre 10 e 10^2 UFC/g, 11 apresentaram entre 10^2 e 10^4 UFC/g e três amostras apresentaram contagem superior a 10^4 UFC/g. Das amostras para fungos, 90% apresentaram contagem superior ao limite considerado adequado pelo MAPA e pela ABINPET, 15% das amostras ultrapassaram o limite considerado aceitável pelo MAPA e inaceitável pela ABINPET.

A contaminação fúngica é um fato de extrema importância na análise das raças a granel, pois os mesmos possuem grande resistência e fácil veiculação no ambiente, além de alguns serem produtores de micotoxinas, podendo estas permanecerem na raça ou nos locais

de armazenamento das mesmas. São menos exigentes que bactérias e leveduras em relação à umidade, pH, nutrientes e temperatura, sua presença, apesar de mais comum que as originadas por qualquer outro grupo de microrganismos, é importante não apenas sob o ponto de vista sensorial, mas também pelo fato de os bolores produzirem micotoxinas (algumas termoresistentes) com riscos à saúde do consumidor (JAY, 2009).

Existem vários tipos de micotoxinas, como aflatoxinas, ocratoxinas, tricotecenos, zearalenona, fumonisinas, todas possuem alguma importância dentro da produção das rações, podendo contaminar as rações em diversas fases do processamento ou da venda. Em cães e gatos, os efeitos das micotoxinas são severos e podem levar à morte, além da perda de nutrientes, alteração das propriedades organolépticas e redução da validade do produto no mercado (CAMPOS, 2007). Alguns dos sinais clínicos produzidos pelas micotoxinas são diminuição de apetite, diarreia, vômito, hemorragias, coagulopatias e possui propriedades carcinogênicas.

Segundo estudo realizado no México, foi detectada a presença de aflatoxinas em 31 de 35 rações secas para cães e gatos testadas, apontando o risco iminente para os consumidores das mesmas (SHARMA & MÁRQUEZ, 2001). Os cães são animais particularmente sensíveis aos efeitos hepatotóxicos agudos e a exposição regular às aflatoxinas que poderão causar dano crônico no fígado desses animais (MAIA & SIQUEIRA, 2007).

Na triagem para coliformes utilizando Caldo LST, na diluição 10⁻¹ foram observados tubos com turvação e formação de gás em 30% (6) das amostras analisadas, na diluição 10⁻² 10% (2) foram positivas.

Das amostras que foram semeadas no Caldo VB todas apresentaram formação de bolha e turvação do meio e não houveram tubos positivos nas diluições 10⁻²; nesse teste foi utilizada a técnica do Número Mais Provável para estimar a quantidade de coliformes totais por grama, onde a maior quantidade foi de 23 NMP (com máximo de 94 e mínimo de 4,6) e a menor foi de 3,6 NMP (com máximo de 17 e mínimo de 0,2), como pode-se ver na Tabela 2.

Das amostras testadas no Caldo EC, para a presença de coliformes termotolerantes, 70% (4) apresentaram turvação do meio e formação de bolha nas diluições 10⁻¹; nenhuma das diluições 10⁻² foram consideradas positivas. Após a coleta dos dados sobre os cultivos, foi determinado o número mais provável por grama de ração, sendo este de 23 NMP (com máximo de 94 e mínimo de 4,6) para todas as amostras consideradas como positivas, como pode-se ver na Tabela 2.

Das 6 amostras que foram testadas para a presença de coliformes totais e termotolerantes, quatro apresentaram tubos positivos para os dois testes, duas foram positivas apenas para coliformes totais e uma foi positiva apenas para coliformes termotolerantes. Os resultados obtidos a partir das amostras em questão, nos mostram que cinco das amostras encontraram-se fora do padrão adequado, uma para coliformes totais (MAPA e ABINPET) e quatro, tanto para coliformes totais, quanto para coliformes termotolerantes (MAPA e ABINPET). Nesse quesito vale ressaltar que a legislação brasileira (MAPA) não apresenta informação sobre os padrões para coliformes termotolerantes.

Desta forma foi considerado que 30% das amostras testadas para coliformes totais e termotolerantes apresentavam contaminação, com esta podendo ser apenas por coliformes totais ou de ambos os grupos de coliformes.

Os coliformes totais e termotolerantes são de extrema importância para avaliação sanitária de rações e alimentos em geral, visto que estes grupos contêm bactérias que são utilizadas como indicadores de qualidade higiênico-sanitária, as *Escherichia spp.* e *Klebsiella*

ssp. são exemplos de bactérias incluídas no grupo de coliformes fecais e que são utilizadas como indicadores de segurança alimentar. Grande parte da contaminação que acomete animais de companhia está relacionada com a ingestão de alimentos que em sua formulação contenham farinha de carne. Estimativas revelam que cerca de 50% das farinhas encontram-se contaminadas com *E. coli* (SOUZA, 2013).

Resultados semelhantes foram encontrados por Girio (2007), onde ao analisar 15 rações comercializadas a granel, no estado de São Paulo, 6,7% apresentaram contaminação por coliformes termotolerantes e 6,7% apresentavam contaminação por coliformes totais.

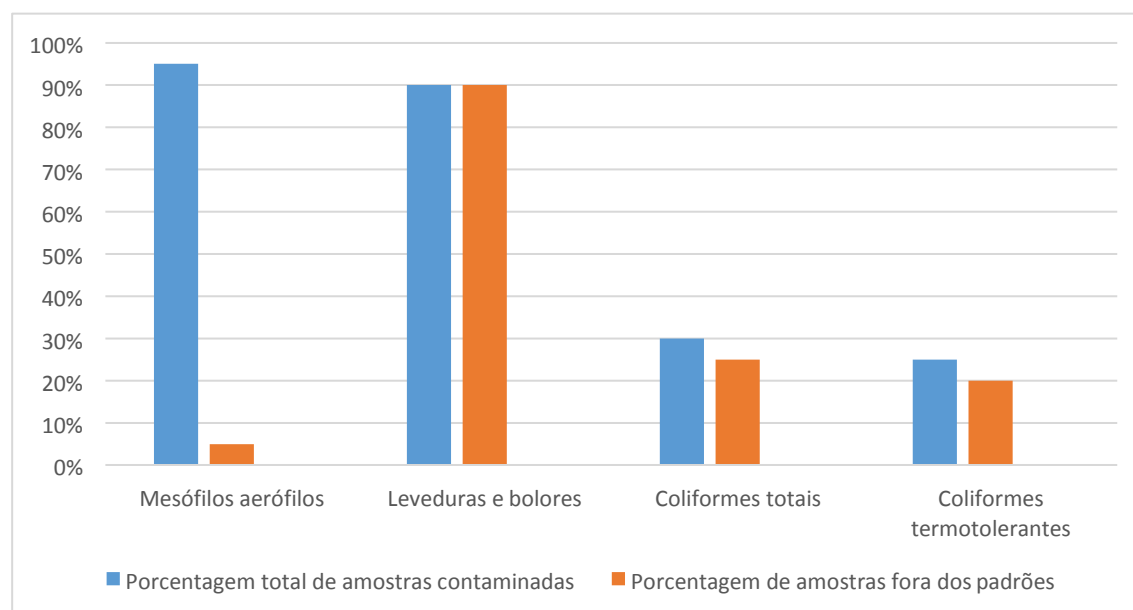


Figura 1. Porcentagem total de amostras positivas e que se apresentaram fora dos padrões MAPA e/ou ABINPET.

De maneira geral a contaminação estava presente na grande maioria das rações, a contaminação por mesófilos aerófilos atingiu 95% das amostras, 90% se apresentaram contaminadas por fungos e bolores, 20% das rações foram positivas quando avaliados a presença de coliformes totais e termotolerantes.

A contaminação presente nas rações vendidas a granel pode ser explicada por falhas estruturais e de capacidade, onde essas favorecem o aparecimento de portas de entrada para agentes contaminantes. Além desses, as características de produção das rações aumentam o risco de contaminação quando expostas ao ambiente externo a embalagem original.

CONCLUSÕES

A grande maioria das rações vendidas a granel apresentaram-se contaminadas por algum dos grupos de microrganismos avaliados. Em algumas rações observou-se contagens superiores aos padrões estabelecidos pelo MAPA e ABINPET, principalmente na análise de leveduras e bolores (fungos).

A falta de uma legislação atualizada sobre o controle microbiológico de rações para animais de companhia dificulta as avaliações e o controle da qualidade microbiológica das rações secas, tanto pelo fabricante quanto por algum laboratório responsável por estudo ou fiscalização, além de poder representar sérios riscos à saúde animal.

As boas práticas de higiene no local de venda podem ajudar a reduzir a carga microbiana das rações, além disso, faz-se necessário armazenar de forma mais adequada as rações vendidas a granel, como embalando-as individualmente (para diminuir a exposição ao ambiente externo) ou higienizando de maneira adequada o ambiente e recipiente, específico, da ração. Esses achados possuem importância na saúde animal e na saúde pública.

REFERÊNCIAS

1. ABINPET. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. Manual do programa integrado de qualidade pet - PIQPET. 2.ed. São Paulo, 2008. 238p.
2. ABINPET, 2017. Associação Brasileira da Indústria de Produtos para Animais de Estimação. Mercado Pet Brasil, Disponível em: <http://www.abinpet.org.br/mercado> acessado em 20/05/2019.
3. AMERICANO, M. M. S. Qualidade microbiológica de ração para cães produzidas e comercializadas no Estado de Mato Grosso. 2016. Dissertação (Mestrado em Biociência Animal) – Universidade de Cuiabá Cuiabá MT, 2016.
4. ANDRADE, R.M. & NASCIMENTO, J.S. Presença de fungos filamentosos em ração para cães comercializadas na cidade de Pelotas – RS. Arquivo do Instituto Biológico de São Paulo, São Paulo, v. 72, n. 2, p. 10-12, 2005.
5. BRASIL. Decreto-lei no 6296, de 11 de dezembro de 2007. D.O.U., Brasília, 11 de dezembro de 2007.
6. BRASIL. MAPA. Normas e padrões de nutrição e alimentação animal. Brasília: MA/SARC/DFPA. p. 12, 2000.
7. BRASIL. MAPA. Instrução Normativa nº62, de 26 de agosto de 2003. D.O.U., Brasília, 26 de agosto de 2003.
8. CAMPOS, S.G. Monitoramento de aflatoxinas, fungos toxigênicos e níveis de contaminação em matérias-primas e alimentos balanceados – Aflatoxicose natural em cães no Estado do Rio de Janeiro. Tese (Doutorado em Ciências Veterinárias) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, RJ, 2007.
9. CAPPELLI, S., LUNEDO, P., FREITAS, C. P., RABER, H. R., MANICA, E., HASHIMOTO, J. H., OLIVEIRA, V. Avaliação química e microbiológica das rações secas para cães e gatos adultos comercializadas a granel. Revista Brasileira de Higiene e Sanidade Animal, v.10 n.1, 90-102p, 2016.
10. DOMINGUES, L. P. Fécula de Batata na alimentação de cães. 2016, Dissertação (Mestrado em Zootecnia), Universidade Federal do Paraná, Programa de Pós-Graduação em Zootecnia, PR, 2016.
11. GIRIO, T. M. S., Qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo em embalagem fechada e a granel. 2007, Dissertação (Mestrado em Ciências Veterinárias), Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias Jaboticabal, SP, 2007.
12. HILLMANN, B. et al., Análise microbiológica de rações para cães comercializadas a granel e em embalagem fechada. Enciclopédia Biosfera, Goiânia, v. 11, n. 21, p. 134, 2015.
13. JAY, J.M. Microbiologia de alimentos. 6. Ed. Porto Alegre: Artmed, 2009.
14. MAIA, P. P.; SIQUEIRA, M. E. P. B., Aflatoxinas em rações destinadas a cães, gatos e pássaros – Uma revisão. Revista da FZVA, v. 14, n. 1, 2007.
15. SANTOS, E. J., CARVALHO, E. P., SANCHES, R. L., BARROS, B. E. B. Qualidade microbiológica de farinhas de carne e ossos produzidas no Estado de Minas Gerais para produção de ração animal. Ciência Agropecuária, Lavras, v.24, n.2, p.425-433, 2000.

16. SHARMA, M.; MÁRQUEZ, C. Determination of aflatoxins in domestic pet foods (dog and cat) using immunoaffinity column and HPLC. *Animal Feed Science and Technology*, v.93, p.109-114, 2001.
17. SILVA, N.; JUNQUEIRA, V. C. A.; SILVEIRA, N. F. A. Manual de métodos de análise microbiológica de alimentos e água. 5^aed, São Paulo, Blucher, 1997.
18. SILVA, L.O.N. Sistema de qualidade (NB 9000) em fábricas de rações. 1998. Tese (Doutorado), Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Agrícola, 1998.
19. SILVA, A. K. da; DOMARESKI, J. L., Avaliação da qualidade microbiológica de rações para cães comercializadas no varejo de Foz do Iguaçu/PR. *Pleiade*, Foz do Iguaçu, v. 9, n. 9, p.7-32, 2011.
20. SOUZA, K. K. Rotulagem, qualidade e segurança biológica de alimentos para animais de companhia e seu impacto na saúde. 2013, pag.232, Tese (Doutorado em Ciências de Alimentos), Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, SC, 2013.

ANEXO 1 - NORMAS DA REVISTA BRASILEIRA DE HIGIENE E SANIDADE ANIMAL - BRAZILIAN JOURNAL OF HYGIENE AND ANIMAL SANITY

Digitação

O trabalho deverá ser digitado em tamanho A 4 210 x 297mm com, no máximo, 25 linhas por página em espaçamento entre linhas 1,5 linhas, com margens superior, inferior, esquerda e direita em 2,5cm, fonte Times New Roman e tamanho 12. O máximo de páginas será 15 para artigo científico, 20 para revisão bibliográfica e 8 para nota, incluindo tabelas, gráficos e figuras.

Estrutura

O artigo científico deverá ser redigido obedecendo a seguinte ordem de estrutura: título, title, autores, resumo (incluindo termos para indexação), abstract (incluindo index terms), introdução, material e métodos, resultados e discussão, conclusões, agradecimentos (opcional) e referências bibliográficas. Notas científicas não necessitam obedecer a estrutura do artigo, mas devem ter, obrigatoriamente, resumo (incluindo termos para indexação), title e abstract (incluindo index terms).

Título

Deve ser escrito com apenas a inicial maiúscula, em negrito e centralizado na página. A chamada de rodapé sem traços para identificação deve ser extraída do título, devendo constar informações sobre a natureza do trabalho (se extraída de tese/dissertação) e referências a instituições colaboradoras. Os títulos das demais seções da estrutura deverão ser escritos com apenas a inicial maiúscula, em negrito, localizados no início da linha.

Autores

Os nomes completos deverão vir abaixo do título, somente com a primeira letra maiúscula, um após outro, separados por vírgula e centralizados na linha. Como chamada de rodapé na primeira página, deve-se indicar, de cada autor, a formação acadêmica, instituição onde trabalha e endereço eletrônico.

Resumo e abstract

Devem começar com estas palavras, na margem esquerda, com apenas a inicial maiúscula, em negrito, contendo no máximo 250 palavras cada e entre três e cinco termos para indexação, os quais não devem constar no título.

Citação de autores no texto

Serão feitas pelo sobrenome, com apenas a primeira letra em maiúscula, seguido do ano de publicação. Citação com apenas um autor usar da seguinte forma: Santos (2002) ou (Santos,

2002); com dois autores, usar Pereira & Freitas (2002) ou (Pereira & Freitas, 2002); com três ou mais autores, usar Xavier et al. (1997) ou (XAVIER et al., 1997).

Tabelas

Serão denominadas de Tabela (em negrito), numeradas consecutivamente com algarismos arábicos, na parte superior. Não usar linhas verticais. As linhas horizontais devem ser usadas para separar o título do cabeçalho e este do conteúdo, além de uma no final da tabela. Cada dado deve ocupar uma célula distinta.

Figuras

Gráficos, fotografias ou desenhos levarão a denominação geral de Figura (em negrito) sucedida de numeração arábica crescente e legenda na parte inferior. Para a preparação dos gráficos deve-se utilizar “softwares” compatíveis com “Microsoft Windows” (“Excel”, “Power Point”, “Harvard Graphics”, etc.). Gráficos e figuras confeccionados em 3 planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Fotos e desenhos devem ser digitalizados; escaneados com 300 dpi, gravados em arquivo nos formatos TIF ou JPG e enviados em arquivos separados do arquivo de texto. Evitar tabelas e figuras com largura superior a 17 cm.

Agradecimentos

Logo após as conclusões poderão vir os agradecimentos a pessoas ou instituições, em estilo sóbrio e claro, indicando as razões pelas quais os faz.

Referências Bibliográficas

Deverão ser apresentadas em ordem alfabética de autores e numeradas de acordo com a NBR 6032 de agosto/2000 da ABNT e conter os nomes de todos os autores. As referências são utilizadas para convencer o leitor acerca da validade dos fatos e argumentos apresentados. Quando adequadamente escolhidas, fornecem maior credibilidade ao trabalho. Observação: deve-se priorizar a citação de referências atualizadas, ou seja, publicadas nos últimos cinco anos, considerando o momento da submissão do manuscrito. Devem ser citadas de periódicos científicos indexados em bases de dados nacionais e internacionais que foram consultadas na íntegra pelo autor e que tenham relação direta, relevante com o assunto abordado; não incluir na lista referências que não possam ser recuperadas no original pelo leitor, como teses e dissertações, trabalhos de conclusão de curso e outras fontes inacessíveis (apostilas, anais etc.) ou obras de reduzida expressão científica. A atualidade da referência, isto é, a citação de obras recentes, com menos de cinco anos, é essencial em artigos originais; as referências a artigos publicados em periódicos latino-americanos e que possuem versão em inglês, deverão ser citadas com o título em inglês; não incluir mais de 20 referências e menos de 15. Todas enumeradas. Veja alguns detalhes citados abaixo.

Alguns exemplos:

Livro

DOMINGUES, P.F., LANGONI, H. Manejo Sanitário Animal. 1th ed. Rio de Janeiro: EPUB, 2001. 210p.

FORTES, E. Parasitologia veterinária. 3a.ed. São Paulo: Éone. 686p. GEORGI, J.R. Parasitologia veterinária. 4a. ed. São Paulo: Manole, 1988. 379p.

Capítulo de livro

AKIBA, M.; TANIKAWA, E.; FUJII, Y. Volatile basic nitrogen (VBN) as a freshness Indicator of fish for canning. In: FAO Technical conference of fish inspection and quality control, 1st, Halifax, 1969. 4 p. (FE: FJC/69/0/52).

Tese/dissertação

PINHEIRO, R.R. Vírus da Artrite encefálica caprina. Desenvolvimento e padronização de ensaios imunoenzimáticos (ELISA e Dot -Blot) e estudo epidemiológico no Estado do Ceará Belo Horizonte, 2001. 115p. Tese (Doutorado em Ciência Animal) –Escola de Veterinária, Universidade Federal de Minas Gerais, MG, 2001.

Artigo de revista

CALLADO, A.K.C.; CASTRO, R.S.; TEIXEIRA, M.F.S. Lentivírus de pequenos ruminantes(CAEV e Maedi-Visna): revisão e perspectivas. Pesquisa Veterinária Brasileira , Viçosa, v.3, n.21, p.87-97, jan. 2001.

Resumo de trabalho de congresso

SALES, R.O. & DE OLIVEIRA, A.C. Comparação entre cromatografia gasosa e de troca iônica para avaliação da qualidade nutricional da proteína da silagem da despesca da tilápia do Nilo. In: XV CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, 15o., 1996, Poços de Caldas - Minas Gerais, Anais...Poços de Caldas: SBCTA, 1996. p.

Trabalho de congresso pela Internet

SILVA, R.N.; OLIVEIRA, R. Os limites pedagógicos do paradigma da qualidade total na educação. In: CONGRESSO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UFPE, 4., 1996, Recife. Anais eletrônicos... Recife: UFPE, 1996. Disponível em . Acesso em: 21 jan. 1997.

Trabalho de congresso em CD

CANDIDO, M.J.D.; BENEVIDES, I.I.; FARIAS, S.F. et al. Comportamento de ovinos em pastagem irrigada sob lotação rotativa com três períodos de descanso. In: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA DE ZOOTECNIA, 41, 2004, Campo Grande, Anais...Campo Grande: SBZ/EMBRAPA Gado de Corte, 2004, (CD -ROMAMB 055).